

## PREPARASI SUBSTRAT LIMBAH BIOMASA KEKAYUAN TROPIKA UNTUK PRODUKSI BIOHIDROGEN

Dwi Susilaningsih, Theresia Umi Harwati, Khairul Anam, dan Yopi

Research Centre for Biotechnology, Indonesian Institute of Sciences, Cibinong - Bogor, 16911, Indonesia

E-mail: [dwisusilaningsih@yahoo.com.sg](mailto:dwisusilaningsih@yahoo.com.sg)

---

### Abstrak

Berkaitan dengan masalah pemanasan global, krisis energi dan polusi, produksi hidrogen oleh mikroorganisma melalui pendekatan bioteknologi, sudah selayaknya menjadi pertimbangan untuk memenuhi permintaan kriteria asosiasi masa kini yaitu produk yang aman, dapat didaur ulang dan ramah lingkungan. Hidrogen, salah satu energi hijau yang menjanjikan, dapat dikonversi menjadi listrik dengan mudah tanpa menimbulkan zat beracun. Ada tiga tipe mikroorganisma yang dapat memproduksi hidrogen, sianobakteria melalui sistem fotosintesis, mikroba an-aerob yang dapat mengubah substrat organik, sebagai donor elektron, menjadi hidrogen dan bakteri fotosintetik yang mempunyai sistem diantara fotosintesis dan an-aerob dengan tingkat yang cukup. Kami mengajukan limbah biomasa yang melimpah di Indonesia untuk digunakan dalam produksi hidrogen dengan memanfaatkan agen mikroba. Fokus penelitian kami adalah produksi hidrogen menggunakan limbah biomasa kayu melalui dua step fermentasi, yaitu dengan mengkombinasikan konversi monomer hasil hidrolisa limbah biomasa kayu menjadi asam laktat melalui bakteri laktat (*Lactobacillus* sp) dan konversi laktat menjadi hidrogen dengan menggunakan bakteri fotosintetik. Ada dua metode preparasi substrat limbah biomasa kayu digunakan dalam penelitian ini, yaitu hidrolisa secara kimia dan hidrolisa secara biologi dengan berbagai faktor. Hasil analisa menunjukkan preparasi substrat secara kimia dengan menggunakan asam kuat menghasilkan 70-90% gula tereduksi dibandingkan kadar gula awal. Sedangkan hasil dari hidrolisa menggunakan asam encer memperoleh gula tereduksi sebesar 4-30% dari gula awal. Selanjutnya hidrolisa secara biologi menunjukkan hasil hidrolisa mempunyai kandungan gula sebesar 0-10% dari gula awal dalam treatment kultur tunggal dan 10-50% jumlah gula dibanding kadar awal diperoleh pada treatment konsorsium mikroba. Hasil hidrolisa ini akan digunakan sebagai substrat dalam proses fermentasi asam laktat dan konversi asam laktat menjadi gas hidrogen secara bertingkat.

### Abstract

**Substrates Preparation from Woody Tropical Waste Biomass for Biohydrogen Production.** Addressing to the global warming problem, energy crisis and pollution, hydrogen production by micro-organisms using biotechnological approach should be considered, since it fulfils the recent society requirement to safely produce, renewable and environmental friendly energy. Hydrogen is one of the most promising green energy sources, because it is easily converted to electricity and cleanly combustible. There are three types of micro-organisms for hydrogen production, the first is cyanobacteria through the photosynthesis process, the second is anaerobic bacteria, which use organic substances as electron donor and energy and convert them to hydrogen, the third is photosynthetic bacteria, somewhat between photosynthetic and anaerobic bacteria, which are capable of converting the organic substances to hydrogen at a fairly high rate. We propose to use the abundant waste biomasses in Indonesia for hydrogen production by the microbial system. Our focus research is the production of hydrogen from waste biomasses by two-stage fermentation systems, which combine the conversion process of monomer biomasses to lactic acid by *Lactobacillus* sp. and the conversion process of lactic acid to hydrogen by photosynthetic bacteria. In this research, two kind substrates preparation were apply for woody waste biomass such as chemical hydrolysis and biological methods with several treatments. The results of the substrate preparation state showed that hydrolyses process of biomasses using strong acid are yielded total sugar about 70-90% of previous original content. Moreover, hydrolyses process using weak/diluted acid are yielded total sugar about 4-30% of original sugar. Furthermore, the biological treatments of degradation of woody waste biomasses are yielded total sugar about 0-10% (by single culture) and 10-50% (by consortium). Those hydrolysates substrates will use for fermentation two stages of lactate fermentation and conversion by photosynthetic bacteria in order to produce hydrogen gas.

**Keywords:** biohydrogen, energy, hydrolysis, substrate, woody waste biomass

---

## 1. Pendahuluan

Kebutuhan dan ketergantungan energi di Indonesia sangat tinggi karena populasi penduduk, jumlah pabrik, perkantoran, dan industri yang sangat besar. Energi yang berasal dari pertambangan fosil seperti jenis bahan bakar minyak, gasoline dan gas sudah tidak mencukupi karena jumlah di alamnya sudah menipis tersisa kurang lebih  $3 \times 10^{24}$  J atau setara dengan cahaya matahari kurang lebih  $4 \times 10^{24}$  J [1], sehingga kebutuhan akan energi baru tidak dapat ditunda lagi. Sudah saatnya ketergantungan kebutuhan energi fosil digantikan dengan energi yang renewable, walaupun hal ini memerlukan revolusi terbalik dari sistem industri energi sekarang. Selama ini kita tinggal menggali kemudian memproses hasil tambangan menjadi berbagai kebutuhan, sedangkan sekarang sudah saatnya mempersiapkan sumber energi yang berkelanjutan dan dapat diperbaharui baru diolah menjadi energi yang dibutuhkan. Berbagai macam pendekatan proses dapat digunakan baik secara fisik kimiawi dan biologis. Salah satu pendekatan adalah menggunakan aplikasi bioteknologi yang dapat menggabungkan aspek fisik dan kimiawi menggunakan agen biologi. Secara umum bioteknologi adalah teknik pendayagunaan organisme hidup atau bagiannya untuk membuat atau memodifikasi suatu produk dan meningkatkan/memperbaiki sifat organisme untuk penggunaan dan tujuan khusus seperti untuk pangan, farmasi dan energi [2].

Pendekatan yang memungkinkan dengan aplikasi bioteknologi adalah pengolahan biomasa terbuang (tidak dimanfaatkan dengan maksimal) untuk menjadi karier energi atau energi langsung. Diketahui Indonesia sebagai negara tropis mempunyai keanekaragaman hayati yang besar, termasuk jumlah biomasa, baik yang berupa limbah dan non limbah yang berpotensi untuk dikonversi menjadi energi. Sampai saat ini, pemanfaatan biomasa tersebut menjadi produk yang lebih berguna dan berdaya komersial tinggi dengan menggunakan penerapan prinsip bioteknologi adalah produksi alkohol, aseton, metan, pakan, pulp, biogas, pelet karbon, media tanam kapang, polipot dan pengembangan media cacing [3,4]. Dari penelusuran pustaka dan referensi belum ditemukan laporan mengenai pemanfaatan biomasa lokal untuk produksi energi gas hidrogen. Gas hidrogen merupakan energi yang mudah dikonversikan menjadi listrik dan bahan bakar, aman untuk lingkungan, karena tidak menyisakan limbah beracun, dan bersih [2]. Hidrogen dapat diproduksi melalui berbagai proses, seperti gasifikasi biomasa, fermentasi biomasa, ekstraksi, proses pencernaan dan proses pirolisis. Dibanding dengan kemajuan status penelitian bioenergi, pengembangan dan produksi biohidrogen masih ketinggalan dibandingkan dengan kemajuan riset bioenergi lain seperti etanol, metan dan ABE/Aseton,

butanol dan etanol [5]. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan studi mengenai pemanfaatan biomasa tersebut untuk sumber energi baru gas hidrogen dengan menggunakan pendekatan bioteknologi. Fokus penelitian ini adalah kegiatan persiapan substrat dari biomasa kayu untuk pembuatan energi hidrogen melalui proses bioteknologi. Diketahui substrat limbah kayu mempunyai kandungan lignin berkisar 20-30% dan komponen lignin termasuk material kompleks yang susah dicerna atau dibusukkan. Pendekatan yang digunakan adalah menggunakan metode kimiawi yang dibandingkan dengan biologi dengan tujuan untuk memaksimalkan metode secara biologi karena aman dan ramah lingkungan, serta untuk memanfaatkan daya sumber hayati indigenous Indonesia.

## 2. Metode Penelitian

### *Mikroorganisme*

Limbah biomasa yang digunakan adalah tandan kosong kelapa sawit, tebu, sekam dan kayu. Mikroba yang digunakan untuk mendegradasi limbah kayu adalah 7 nomor jamur hasil isolasi Puslit Bioteknologi LIPI, yaitu B1, B2, B3, B4, B5, B6 dan B7. Jamur tersebut dibiakkan langsung dengan masing-masing substrat atau kontrol positif menggunakan medium PDA (Merck, USA) dicampur dengan Avicell dan selulosa (1-2%).

### *Hidrolisa Limbah*

**Kimiawi.** Limbah tandan kosong kelapa sawit, tebu dan kayu dihidrolisa secara kimiawi dan biologi. Hidrolisa secara kimiawi menggunakan asam perklorat 2-4% dan menggunakan asam sulfat 40%. Limbah direndam dalam larutan asam dengan berbagai konsentrasi dari asam pekat sampai dengan asam encer (1-80%) dan dipanaskan pada suhu 100°C melalui proses refluks. Perbandingan hidrolisa limbah adalah 20 limbah: 1 zat penghidrolisa. Selanjutnya dilakukan penyaringan yang menghasilkan fase cair dan padat. Fase cair dinetralkan pHnya menjadi kurang lebih 6, kemudian dipekatkan melalui proses evaporasi dan siap untuk difermentasikan. Keberhasilan proses monomerisasi diukur menggunakan parameter total sugar yang dianalisa menurut modifikasi metoda standard ekstraksi asam fenol-sulfur [6] dan dideteksi menggunakan spektrofotometer pada absorbansi 495 nm.

**Biologi.** Hidrolisa secara biologi menggunakan agen jamur dan bakteri yang diisolasi dari kayu lapuk. Agen biologi ini disebut B1-B7. Limbah yang disterilisasikan dibusukkan menggunakan agen biologi tersebut selama 10-14 hari pada suhu ruangan. Proses pembusukan dilakukan menggunakan jamur tunggal dan konsorsium. Kandungan monosakarida diasumsikan total gula, akan dimonitor pertumbuhannya untuk mengetahui apakah polimer lignin dan selulosa terurai atau resist.

### 3. Hasil dan Pembahasan

**Hidrolisa limbah menggunakan asam pekat dan asam encer.** Hidrolisa limbah kayu, bagas/tebu dan tandan kosong kelapa sawit) secara kimiawi dengan menggunakan asam pekat menghasilkan kenaikan kadar senyawa tunggal sebesar 0.043-0.049 gram dari kurang lebuah sekitar 0.016-0.040 gram kadar awal dihitung dari besaran kandungan total gula (Tabel 1).

Sedangkan hidrolisa secara kimiawi menggunakan asam encer menghasilkan monocompound sebesar kisaran sekitar 0.2-1.3 gram kadar gula dibandingkan kadar awal sebesar kisaran 0.2-1.5 gram (Tabel 2).

**Degradasi limbah menggunakan agen biologi/jamur.** Degradasi polimer limbah kayu menggunakan agen

**Tabel 1. Hasil hidrolisa limbah kayu menggunakan asam sulfat pekat**

Limbah Biomasa	Biomasa kering (g)	KTGA (g)	KTGSH (g)	%
Kayu	0.057	0.0018	0.048	81.05
Bagase	0.052	0.0016	0.043	79.62
Sekam	0.051	0.0040	0.049	88.23

Keterangan: KTGA = Kadar total gula awal, KTGSH = Kadar total gula setelah hidrolisa

**Tabel 2. Hasil hidrolisa limbah kayu menggunakan asam sulfat encer dengan berbagai perlakuan**

Sampel/kadar asam/ dan perlakuan	Berat awal sampel (g)	KGAS (g)	KGSD (g)	(%)
Sawit/4%+refluk	5.04	0.0019	0.628	12.48
Rumput/4%+refluk	4.98	0.0017	0.818	16.39
Kayu/4%+refluk	5.01	0.0018	0.224	4.44
Sekam/4%+refluk	5.03	0.0040	0.870	17.22
Bagase/4%+refluk	5.03	0.0016	1.484	29.47
Sawit/2%+steril+refluk	5.04	0.0019	0.595	11.77
Kayu/2%+steril+refluk	5.05	0.0018	0.211	4.14
Sekam/2%+steril+refluk	5.07	0.0040	0.707	13.86
Bagase/2%+steril+refluk	5.07	0.0016	1.244	24.50
Bagase/1%+steril	5.01	0.0016	1.056	21.10

Keterangan: KGAS = Kadar gula awal sampel, KGSD = Kadar gula setelah dihidrolisa

**Tabel 3. Hasil degradasi limbah kayu menggunakan agen biologi jamur putih (B1) selama 2 minggu**

Sampel/kadar asam/ dan perlakuan	Berat kering sampel (g)	KGA (g)	KGSD (g)	(%)
Sawit steril	0.0116	td	0.259	2.32
Kayu steril	0.0113	td	1.074	9.50
Sekam steril	0.0114	td	0.038	0.33
Bagase steril	0.0117	td	0.030	0.25
Bagase/ 4% +refluk, steril	0.0115	td	0.068	0.59
Bagase/ 1% +steril	0.0117	td	0.337	2.88
Bagase /8% +steril	0.0114	td	0.333	2.92
Sawit /2% +steril+refluk	0.0115	td	0.028	0.24
Kayu /2% +steril+refluk	0.0113	td	0.032	0.28
Sekam /2% +steril+refluk	0.0117	td	0.029	0.25
Bagase /2% +steril+refluk	0.0115	td	0.047	0.41

Keterangan: td = Tidak terdeteksi secara kuantitatif, KGA = Kadar gula awal, KGSD = Kadar gula setelah dihidrolisa

**Tabel 4. Hasil degradasi limbah kayu oleh konsorsium bakteri selama 2 minggu (B1-B7)**

Limbah biomasa	Biomasa kering (g)	KGA (g)	KGSD (g)	(%)
Kayu	0.057	0.0018	0.013	19.65
Bagase	0.052	0.0016	0.027	48.65
Sekam	0.051	0.004	0.018	27.45

Keterangan: KGA = Kadar gula awal sampel, KGSD = Kadar gula setelah dihidrolisa

biologi (konsorsium jamur), menghasilkan monomer sebesar 0.2-1 mg kadar gula dari kadar gula awal yang tidak dapat dideteksi (terlalu kecil) (Tabel 3).

Sedangkan limbah kayu, bagas/tebu dan tandan kosong kelapa sawit yang dibusukkan menggunakan agen jamur tunggal hanya menghasilkan monomer compound 0.013-0.027 gram dari kadar awal berkisar 0.004-0.018 gram (Tabel 4).

Limbah kayu diketahui mempunyai kandungan selulosa, lignin, sakarida, lilin dan lemak. Problem utama dalam pengolahan limbah ini adalah kandungan lignin yang tinggi berkisar 20-30% dari berat biomasa.

Berbagai proses telah diaplikasikan untuk menguraikan lignin, secara kimiawi dan fisikawi komponen ini dapat diuraikan menjadi monomer, yaitu melalui hidrolisa dan pembakaran. Perlakuan kedua proses tersebut diketahui

tidak ramah terhadap lingkungan, karena melibatkan zat reaktif yang toksik dan menghasilkan polutan lain seperti senyawa karbonmonoksida. Era sekarang banyak diupayakan mengolah limbah dengan berorientasi pada proses yang aman dan hasil yang ramah terhadap lingkungan (*white technology*). Bioteknologi lignoselulosa menjadi salah satu alternatif penyelesaian masalah limbah biomasa yang mempunyai kandungan beragam polimer lignoselulosa untuk diuraikan secara enzimatik.

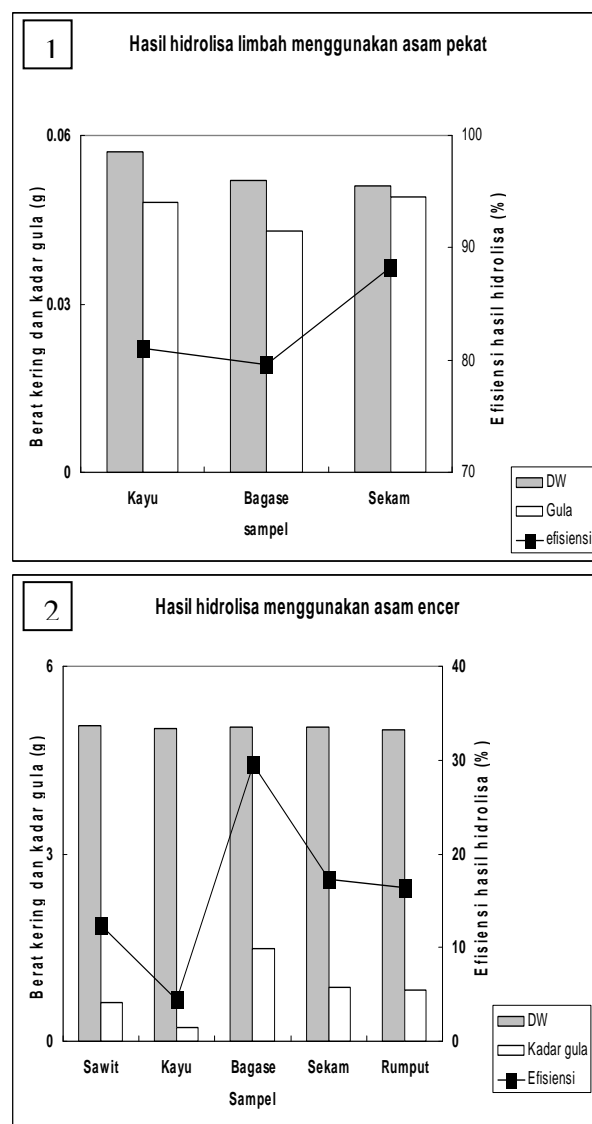
Hasil penelitian mengenai peruraian substrat kayu menggunakan asam sulfat pekat dan encer, diketahui limbah kayu tersebut dapat diuraikan menjadi monomer yang kemungkinan adalah selulosa/polisakarida-nya menjadi monosakarida (gula/pati). Kami mengasumsikan dan menghitung kadar pati/gula karena substrat tersebut akan diperlukan dan gunakan untuk fermentasi dan konversi menjadi karier energi gas hidrogen. Perlakuan hidrolisa yang digunakan adalah menggunakan asam sulfat jadi kemungkinan yang terhidrolisa adalah selulosa dan polisakaridanya, sedangkan residu yang tertinggal kemungkinan lignin. Lignin dapat dihidrolisa menggunakan nitrobenzen atau kombinasi etanol dan asam hidroklorat yang menghasilkan senyawa vanilin, siringaldehid, p-hidroksibenzaldehid, alfa-etoksipropioguaiakon, guaiasilat, vaniloil metil keton atau hidroksibenzoil metil keton [7]. Pada hasil penelitian ini hidrolisa secara kimiawi menghasilkan kenaikan monosakarida sampai 88% kandungan gula, tetapi proses ini merupakan kontrol positif dan diharapkan tidak diterapkan secara luas karena menggunakan zat toksik asam sulfat pekat dan encer.

Proses pembusukan/ peruraian lignin oleh mikroorganisma memerlukan waktu yang lama, namun hal ini dapat dipersingkat apabila mengetahui jalur metabolisme peruraiannya oleh mikroorganisma. Beragamnya kandungan lignoselulosa limbah memerlukan konsorsium bakteri yang beragam pula untuk bekerja secara terpadu. Diperlukan bervariasi enzim untuk menguraikan lignin tersebut, oleh karena itu studi konsorsium mikroba pengurai, karakterisasi enzim dan cara bekerjanya sangat dibutuhkan. Beberapa mikroba yang diduga berperan dalam proses lignoselulosa adalah bakteri, yeast dan fungi. Jenis fungi yang sudah teridentifikasi sebagai lignin degrader adalah white dan black fungi, yaitu jenis *Agraulis* sp., *Fusarium* sp. dan *Chaetomium* sp. [8].

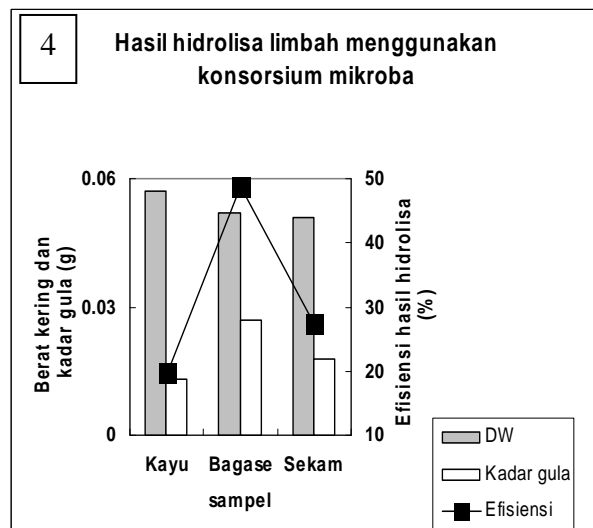
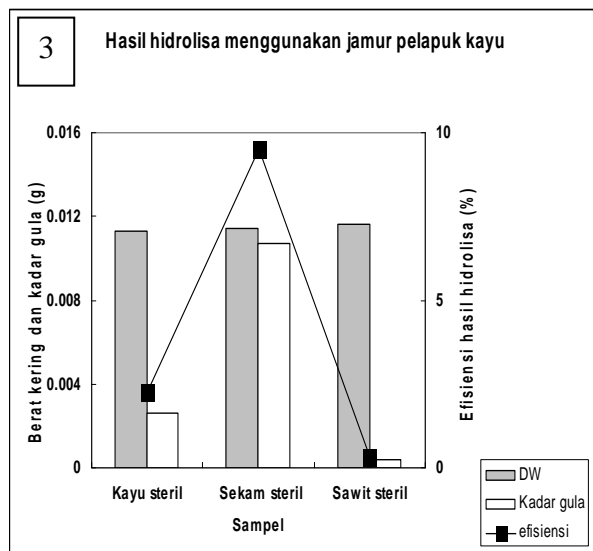
Efisiensi yang diperoleh melalui proses hidrolisa secara kimiawi dari limbah kayu, sawit dan sekam adalah berkisar 10-90% dihitung dari kadar pati yang didapat per berat kering biomasa limbah (Gambar 1-2). Melihat hasil tersebut, hidrolisa secara kimia memang menyisakan residu yang sedikit, namun kami berusaha untuk menghindari proses ini karena tidak ekonomis

dan bukan merupakan teknologi aman terhadap lingkungan.

Selanjutnya degradasi limbah kayu menggunakan jamur yang diisolasi dari busukan limbah kayu di alam menghasilkan efisiensi kenaikan kadar gula dari 2-hampir 50% dibandingkan kadar gula awal sample per berat kering biomasa. Perlakuan yang digunakan yaitu dibusukkan menggunakan agen jamur tunggal maupun konsorsium, dan ternyata secara konsorsium menghasilkan hasil uraian monomer yang lebih besar daripada didegradasi menggunakan jamur tunggal (Gambar 3-4). Hal ini memberikan harapan bahwa secara biologis limbah kayu ini dapat didegradasi walaupun memakan waktu yang agak lama. Salah satu jalan untuk mempersingkat waktu dan efisiensi adalah mengoptimalkan kinerja konsorsium mikroba yang



Gambar 1-2. Efisiensi kadar gula hasil hidrolisa secara kimiawi dari beberapa sampel kayu



**Gambar 3-4. Efisiensi kadar gula dari hasil degradasi limbah kayu selama 2 minggu menggunakan jamur tunggal dan konsorsium.**

terlibat atau dengan mutasi mikroba yang tepat. Menurut Howard *et al* [9], peruraian limbah kayu menggunakan agen konsorsium mikroba akan lebih efisien dibanding perlakuan yang lain karena konsorsium mikroba adalah berarti menggabungkan berbagai enzim dari aktifitas mikroba-mikroba tersebut,

sehingga lebih banyak komponen kayu dapat didegradasi.

Pada saat ini kami sedang melanjutkan penelitian ini yang ditekankan kepada efektifitas peruraian limbah kayu menggunakan mikroorganisme. Selanjutnya harapan kami substrat yang dihasilkan dapat dikonversi menjadi karier energi gas hidrogen yang merupakan green energi masa depan. Kami menyadari hasil ini masih sangat sedikit namun hasil ini memberikan harapan bahwa ada kemungkinan positif menggunakan limbah biomassa kayu yang terbuang begitu saja menjadi sesuatu yang lebih bermanfaat.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh proyek kompetitif pengembangan IPTEK LIPI sub-program energi baru dan terbarukan tahun 2006. Kami juga menyampaikan terimakasih yang besar kepada seluruh yang terlibat dalam penelitian ini, UPT Biometrial LIPI, Puslit Tenaga Listrik dan Mekatronik (P2 TELIMEK) LIPI.

### Daftar Acuan

- [1] J. Miyake, The science of biohydrogen: an energetic view. *Biohydrogen*, (1998) 9-18.
- [2] K. Miyamoto, P.C. Hallenbeck, J.R. Benemann, *Appl Environ Microbiol.* 37 (1997) 454-458.
- [3] S. Dwi, K. Hirata, Y. Asada, K. Miyamoto, *World J. Of Microbiol Biotechnol.* 17(2001) 259-264
- [4] Y. Fauzi, Y. Widyastuti, I. Satyawibawa, R. Hartono, *Kelapa sawit: Budidaya, pemanfaatan hasil & limbah, analisis usaha dan pemasaran*, Penebar swadaya, Jakarta. Eds. Revisi, 2002.
- [5] P.A.M. Claasen, A.M.L. Conteras, E.W.J. van Niel, L. Sijtsma, A.J.M. Stams, S.S. de Vries, R.A. Weusthuis, *Appl Microbiol Biotechnol*, 52 (1999) 741-755.
- [6] T. Hirokawa, M. Hata, H. Takada, *Plant and Cell Physiology* 25 (1982) 813-820.
- [7] T. Higuchi, *Cell. Mol. Life. Sci.* 38(2) (1982) 159-166.
- [8] Suyanto, T. Otsuki, S. Yazaki, S. Ui, A. Mimura, *Appl. Microb. Biotechnol.*, 2002.
- [9] R.L. Howard, E. Abotsi, E.L.J.V. Rensburg, S. Howard, *African Journal of Biotechnol*, 2(12) (2003) 602-619.